

Kontribusi Nitrogen dari Bakteri Endofit pada Tanaman Padi

Nitrogen Contribution of Endophyte Bacteria to Lowland Rice

Nur Maulidya Zain, Taufiq Bachtiar dan Irawan Sugoro

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta Selatan 12440
E-mail : Taufiqb@batan.go.id

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh pemberian isolat mikroba endofit yang berasal dari batang padi varietas Mira-1. Teknik ^{15}N digunakan untuk mengetahui kontribusi masing-masing isolat pada serapan N dalam jerami dan gabah padi. Penelitian dilakukan pada bulan Nopember 2013 hingga Maret 2014 bertempat di Rumah Kaca dan Laboratorium Pemupukan dan Nutrisi Tanaman, PAIR BATAN, Jakarta Selatan. Rancangan acak lengkap dengan 5 kali ulangan digunakan dalam penelitian ini. Perlakuan yang diberikan meliputi pemberian isolat A1, A3, dan A6 sebagai pembanding digunakan kontrol (tanpa perlakuan) dan pemberian urea 100%. Isolat A3 memberikan peningkatan tertinggi terhadap berat kering tanaman padi dan jumlah malai dengan peningkatan berturut-turut sebesar 33.29% dan 37.73% dari kontrol. Teknik ^{15}N menunjukkan bahwa kontribusi perlakuan A3 dan A6 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif (pemberian urea rekomendasi). Perunutan dengan teknik ^{15}N berhasil menggambarkan bahwa penambatan N_2 paling banyak terjadi di jerami padi.

Kata Kunci : Pupuk hayati, Endofit, Nitrogen, Padi, Isotop

ABSTRACT

This study was conducted to examine the effect of endophytic microbes from paddy straw (MIRA-1 variety). The ^{15}N technique was used to study the contribution of each endophyte microbes on N uptake. This research was conducted from November 2013 to April 2014 at Greenhouse and Laboratory of Fertilization and Plant Nutrition, PAIR BATAN, South Jakarta. This research used completely randomized design with 5 treatments repeated 5 times. The treatments were A1, A3, A6 (as isolates), K- (without treatment), and K+(100% urea). The experimental results showed that the isolates A1, A3, and A6 are bacillus-shape Gram-negative bacteria which have potential application as biological fertilizer. Isolate A3 gave the highest result to increase plant dry weight and number of panicles with 33.29% and 37.73% increasement in compare to control, respectively. The ^{15}N technique showed that the contribution of A3 and A6 treatment gave no significantly effect to positive control (urea recommendation). The ^{15}N technique also succeeds to illustrate that N_2 fixation is mostly occurs in rice straw.

Keywords : Biofertilizer, Endophyte, Nitrogen, Rice, Isotop

PENDAHULUAN

Penggunaan mikroba sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan hasil pertanian sedang marak dilakukan. Salah satu hal yang memicu adalah dengan ditemukannya berbagai jenis bakteri endofit diazotrop pada tanaman *Graminae* seperti tebu, jagung, gandum dan padi [1-3]. Bakteri endofit penambat N pada tanaman padi dilaporkan lebih melimpah di batang dibandingkan di akar. Hal ini diduga karena jaringan batang merupakan tempat yang cocok untuk tumbuh dan berkembang biak [4]. Bakteri endofit diazotrop masuk ke dalam

jaringan tanaman melalui akar tanaman. Meskipun demikian, beberapa laporan menyatakan endofit dapat masuk melalui batang, bunga, dan biji. Bakteri endofit diazotrop masuk dan berkembang pada jaringan yang dimasukinya atau dapat menyebar di dalam intersellular atau di sistem vaskular [5].

Bakteri ini hidup dalam jaringan akar atau berada pada jaringan yang kompak, seperti buku batang dan pembuluh xilem [6], sehingga mampu tumbuh pada lingkungan dengan tekanan O_2 yang rendah yang sangat penting bagi aktivitas enzim nitrogenase [7]. Bakteri ini juga dapat

meningkatkan kandungan zat besi dalam tanah, fosfor dan nitrogen bagi tanaman [8]. Beberapa bakteri diazotrof endofitik selain mampu mengikat N_2 juga mampu mensekresikan hormon pertumbuhan asam indol-3-asetat [9]. Zat pengatur tumbuh terutama asam indol-3-asetat (AIA) seringkali berpengaruh terhadap pertumbuhan akar primer, akar sekunder, dan rambut akar [10] sehingga AIA merupakan auksin alami yang memegang peranan penting dalam peningkatan pertumbuhan tanaman [11]. MILIŮTĚ dan BUZAITĚ melaporkan bahwa endofit yang diisolasi selain mampu mengikat nitrogen, juga menghasilkan AIA dan melarutkan fosfat [12].

Secara sistematis, bakteri endofit membentuk koloni dan mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui perlindungan terhadap hama penyakit, degradasi kontaminan, dan sekresi hormon tumbuh [13,14]. Penggunaan bakteri endofit diazotrop dalam budidaya tanaman padi dapat bermanfaat jika terjadi interaksi positif antara bakteri endofit dengan tanaman inangnya. Bakteri endofit diazotrop dapat diisolasi dari beberapa bagian tanaman padi seperti akar, batang, biji dan daun. Pada umumnya peneliti mendapatkan isolat *Pantoea* dari dalam biji, *Methylobacterium* dari batang, *Azospirillum* dan *Herbaspirillum* dari batang dan daun, serta *Burkholderia* dan *Rhizobium* dari akar [15].

Padi (*Oryza sativa*) merupakan tanaman sereal yang paling penting karena memberi kontribusi terhadap pangan sekitar 50% dari populasi dunia, sehingga produksinya harus terus ditingkatkan untuk memenuhi kebutuhan konsumsi dunia [16]. Namun peningkatan ini harus sejalan dengan pertanian yang berkelanjutan sehingga reduksi terhadap pupuk kimia dan pestisida kimia harus terus dilakukan. Secara umum pupuk kimia urea merupakan sumber yang tepat bagi tanaman padi, tetapi efisiensi dari pemanfaatan N berasal dari urea seringkali sangat rendah berkisar 30-40% atau seringkali sangat rendah dari nilai tersebut [17,18]. Perhitungan yang akurat mengenai jumlah N yang diperoleh melalui pengikatan oleh bakteri pemfiksasi N menjadi penting untuk dapat menambah atau mengurangi jumlah pupuk kimia yang diberikan untuk meningkatkan produksi padi. Oleh karena itu studi mengenai pemanfaatan bakteri endofit diazotrop dan peranannya dalam menyumbang N berasal dari udara perlu dilakukan dengan teknik isotop N^{15} .

BAHAN DAN METODE

Isolasi bakteri endofit padi MIRA 1

Metode yang digunakan dalam isolasi mikroba endofit merupakan modifikasi dari metode isolasi COOMBS dan FRANCO [19]. Varietas padi yang digunakan adalah varietas MIRA 1 yang telah ditanam di kebun percobaan PAIR-BATAN, Pasar Jumat, Jakarta Selatan. Sample yang dipilih adalah tanaman yang paling baik pertumbuhannya untuk dipanen pada masa awal pertumbuhan yaitu 21 hari setelah tanam. Kemudian sampel tanaman dimasukkan ke dalam box secara aseptik dan dibawa ke Laboratorium Tanah PAIR-BATAN untuk diisolasi bakterinya dari akar dan batang tanaman. Akar dan batang tanaman padi varietas MIRA 1 dicuci dengan air sampai bersih dari sisa-sisa tanah yang menempel kemudian dipotong-potong dengan ukuran 2-3 cm. Setelah itu akar dan batang tanaman dimasukkan ke dalam gelas Baker kemudian direndam dalam aquadest dan dikeringkan. Setelah itu pencucian dilanjutkan dengan alkohol 70% selama 30 detik dan disterilisasi dengan $NaClO_2$ 2.5 % selama 5 menit.

Jaringan tanaman kemudian dicuci kembali dengan aquadest steril sebanyak sepuluh kali dan dikeringkan menggunakan kertas saring steril [20]. Setelah batang mengering, ujung-ujung batang dibakar dengan spirtus dan bagian tengah dihaluskan dengan menggunakan mortar steril dan diencerkan dengan larutan buffer fosfat (PBS) sebanyak 5 ml. Suspensi kemudian diencerkan secara berseri hingga 10^{-5} dan dilakukan pencawanan (*plating*) secara duplo masing-masing sebanyak 50 μ l pada media *nutrient agar* (NA). Setelah diinkubasikan pada suhu ruang selama 24-48 jam, koloni bakteri yang terbentuk masing-masing dipisahkan dan dipindahkan pada media cawan agar yang baru sehingga diperoleh isolat yang murni. Sebagai kontrol, batang yang belum dihaluskan digulirkan pada bagian tengah media NA dalam cawan petri dan diinkubasikan selama 24-48 jam. Hal ini dilakukan untuk menguji efektivitas sterilisasi permukaan. Jika terdapat kontaminasi maka bakteri hasil plating tidak dapat digunakan dan sterilisasi permukaan harus diulang.

Pembuatan kurva standar

Kurva pertumbuhan isolat pada media *nutrient broth* ditentukan dengan mengukur kerapatan optik (620 nm) pada waktu tertentu.

Masing-masing isolat bakteri dalam agar miring diambil 1 ose kemudian dimasukkan ke dalam 100 ml media *nutrient broth* dan dilakukan pengocokan. Kerapatan optik diukur pada jam ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 24 jam. Hasil pengukuran dibuat kurva dengan sumbu x adalah waktu inkubasi dan sumbu y adalah nilai kerapatan optik. Kurva pertumbuhan yang diperoleh digunakan untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri. Kurva standar populasi dibuat untuk menggambarkan hubungan antara nilai kerapatan optik suspensi bakteri (sumbu x) dengan jumlah satuan pembentuk koloni bakteri per ml biakan (sumbu y). Kurva ini ditentukan dengan metode turbidimetrik [21].

Pengujian bakteri endofit pada tanaman dan kemampuannya mengikat nitrogen

Percobaan secara *in vivo* dilakukan untuk menguji kemampuan bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman padi. Tanah yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tanah asal Pasar Jumat, Jakarta Selatan. Untuk persemaian contoh, tanah dikeringudarkan kemudian diayak dengan saringan tanah ukuran 18 mesh lalu disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* kemudian disimpan dalam bak-bak semai. Sebelum disemai, benih padi yang akan diinokulasi, terlebih dahulu disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% dan direndam dalam NaOCl_2 2.5% selama 3 menit. Media pertumbuhan untuk padi digunakan tanah yang sama pada pot dengan Bobot Kering Mutlak 5 kg/pot. Pemberian ^{15}N sebagai *tracer* menggunakan metode tidak langsung, dengan cara melabel tanah pada pot dengan $(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$ atom eksis 5.02% masing-masing 0.1 g/pot.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang diberikan meliputi : kontrol (tanpa perlakuan), isolat A1, isolat A3, isolat A6, dan pupuk kimia sesuai dosis rekomendasi. Pemberian isolat

dilakukan pada saat tanam dengan merendam bibit padi pada umur 7 hari dalam inokulan cair selama 30 menit. Sebelumnya inokulan cair dibuat dengan cara menumbuhkan isolat bakteri A1, A3, dan A6 dalam media cair *Nutrient Broth* 100 ml dengan jumlah sel awal masing-masing sebanyak 10^9 cfu/ml. Padi yang telah mengandung bakteri endofit kemudian ditanam pada tanah yang telah diairi sehingga membentuk lingkungan sawah dalam pot.

Parameter yang diamati meliputi data tinggi tanaman, jumlah anakan, bobot kering tanaman, bobot kering gabah. Sedangkan analisis di laboratorium dilakukan untuk memperoleh kadar N-total dengan metode *Kjedhal* dan cacahan ^{15}N dalam contoh tanaman diukur dengan metode Dumas menggunakan NOI-6PC. Analisis statistik dilakukan untuk melihat pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diamati. Statistik pengujian menggunakan F hitung (uji univariat untuk variabel respon yang terdiri atas N-total, serapan N berasal dari N-15, N berasal dari perlakuan, berat kering tanaman, berat kering gabah), jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf $\alpha = 5\%$.

Analisis nitrogen total

Analisis nitrogen total dilakukan menggunakan metode *Kjeldahl*. Padi yang sudah dipanen (120 hari setelah tanam) dikeringkan lalu seluruh bagian padi dihaluskan hingga menjadi lolos saring 18 mesh. Bagian jerami padi dan bulir padi dipisahkan. Serbuk padi ditimbang sebanyak 0,5 g lalu ditambahkan dengan selenium mixture sebanyak 0,5 g dan H_2SO_4 sebanyak 5 ml. Kemudian menjalani proses destruksi selama 30 menit. Setelah proses destruksi, sampel dipindahkan ke labu destilasi dengan ditambahkan NaOH (0,1 N) 15 ml dan HCl (0,1 N) 10 ml untuk menjalani proses destilasi selama 15 menit. Hasil destilasi dititrasi dengan menggunakan NaOH 0,1 N. Analisa N-total dilakukan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Nitrogen (\%)} = \frac{(\text{Vc}-\text{Vb}) \times \text{N}(0,1) \times \text{Berat atom (14)}}{\text{Berat sampel (500 ml)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Vc : volume titrasi (ml)

Vb : volume blanko (ml)

N : normalitas NaOH

Serapan N dihitung pada masing-masing perlakuan pada jerami dan gabah. Perhitungan serapan Nitrogen dilakukan dengan rumus :

Serapan Nitrogen (gN/pot) = Berat kering sampel x kadar Nitrogen (%)

Perhitungan kadar ^{15}N dilakukan menggunakan larutan hasil titrasi yang telah diuapkan sampai volume 1-3 μgN , kemudian sampel dimasukan ke dalam pipa kapiler berdiameter 2mm dengan panjang 8 mm. Pipa kapiler yang telah berisi larutan sampel dimasukan ke tabung Pyrex. Kemudian ditambahkan larutan CuO dan CaO stik dengan panjang 1 cm. Tabung kemudian divakum sampai tekanan dalam tabung mencapai 10^{-3} Torr (mmHg), tabung kemudian

Persiapan bakteri endofit

Tiga isolat terpilih yang telah diisolasi dari akar padi MIRA1 ditumbuhkan pada media NA. Isolat hasil seleksi dilakukan pewarnaan Gram dan dilihat morfologi bentuk sel. A1, A3, dan A6 merupakan bakteri Gram negatif dengan bentuk basil (Gambar 1). Pembuatan kurva tumbuh dilakukan untuk menentukan fase eksponensial sehingga diketahui kemampuan kecepatan tumbuh masing-masing isolat. Isolat-isolat yang mempunyai kemampuan tumbuh dengan cepat cenderung memiliki kemampuan adaptasi yang

Pengukuran N dari perlakuan :

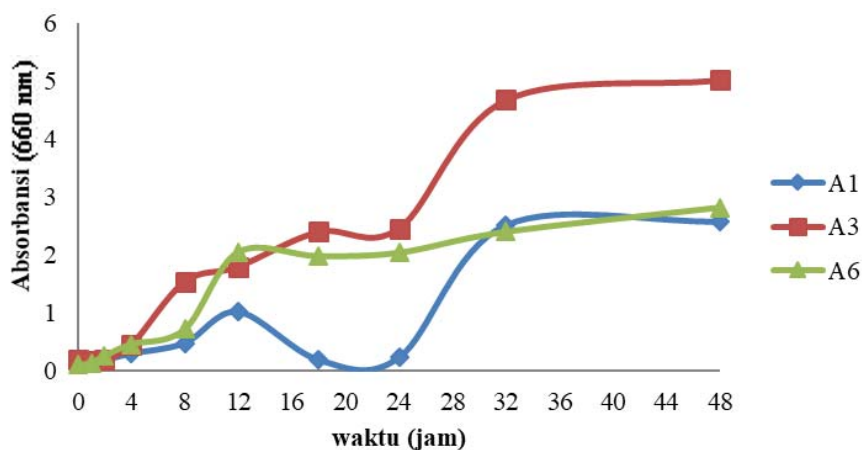
$$\% \text{Nbdp} = \left(1 - \frac{{}^{15}\text{N a.e \% perlakuan}}{{}^{15}\text{N a.e \% kontrol negatif}} \right) \times 100$$

Pengukuran N dari pupuk ^{15}N :

$$\% \text{Nbdp} = \frac{{}^{15}\text{N a.e \% perlakuan}}{{}^{15}\text{N a.e \% kontrol negatif}} \times 100$$



Gambar 1. Bentuk sel isolat A1, A3, dan A6 pada perbesaran 1000x.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan isolat Endofit dalam media NB

nutrientbroth yang mengandung lebih dari satu sumber karbon.

Isolat A1 mengalami penurunan nilai absorbansi pada saat 20-24 jam setelah inokulasi. Penurunan nilai absorbansi dapat disebabkan oleh daya adaptasi isolat untuk menghasilkan enzim yang akan digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Isolat A3 dan A6 mengalami peningkatan nilai absorbansi seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Kedua isolat ini mengalami fase

Perlakuan A3 memberikan respon yang nyata pada berat kering tanaman padi dengan peningkatan sebesar 33.29% dari kontrol. Isolat A3 mampu meningkatkan jumlah malai secara nyata dengan peningkatan sebesar 37.73% dari kontrol.

Peningkatan berat kering tanaman padi pada umumnya sejalan dengan peningkatan terhadap berat kering gabah, namun pada penelitian ini nilai berat kering gabah tidak berbeda nyata. Hasil yang

Tabel 1. Pengaruh perlakuan pemberian isolat endofit pada pertumbuhan tanaman padi

Perlakuan	Parameter pertumbuhan padi				
	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah Anakan (buah/pot)	Jumlah malai (buah/pot)	BK Jerami (g/pot)	BK Gabah (g/pot)
Isolat A1	83.8 a	20.6 a	14.60 bc	34.91 ab	17.41 a
Isolat A3	85.4 a	22.6 a	14.60 bc	41.16 bc	17.36 a
Isolat A6	86 a	18.8 a	10.00 a	39.44 bc	13.91 a
NPK (K+)	88 a	22.4 a	15.80 c	43.78 c	17.38 a
Kontrol (K-)	86 a	17.4 a	10.60 ab	30.88 a	16.72 a

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

stasioner, yaitu pada jam ke-16 hingga ke-24. Fase stasioner yang terjadi menunjukkan bahwa isolat-isolat sudah mampu beradaptasi dengan lingkungannya. Hal ini menunjukkan bahwa isolat mempunyai kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap lingkungannya. Dengan pertumbuhan yang baik, isolat-isolat yang diuji diharapkan mampu bertahan di dalam tanah dan masuk ke dalam jaringan tanaman sehingga mendukung pertumbuhan tanaman padi.

Pertumbuhan tanaman padi

Tinggi tanaman merupakan salah satu parameter yang diukur untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan tanaman. Berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa semua perlakuan tidak mendapat respon pada peningkatan tinggi tanaman padi. Hasil yang disajikan pada Tabel 1 juga menunjukkan bahwa perlakuan tidak menunjukkan perbedaan terhadap jumlah anakan. Perlakuan NPK 100% memberikan pengaruh yang nyata pada jumlah malai tanaman padi dengan nilai peningkatan sebesar 49.06 % bila dibandingkan dengan kontrol. Pemberian inokulan bakteri endofit A1 dan A3 memberikan respons yang nyata dalam meningkatkan jumlah malai tanaman padi sebesar 37.76% dari kontrol.

tidak nyata pada tinggi tanaman dan berat kering tanaman dapat disebabkan oleh kondisi tanah dan genotipe padi. Tanah dengan kandungan hara dengan kriteria sedang sampai dengan tinggi cenderung tidak akan memberikan respon terhadap pemupukan kimia, sehingga tidak akan berdampak terhadap pertumbuhan tanaman. Hal ini disebabkan karena kemampuan tanah tersebut dalam menyuplai kebutuhan hara selain N bagi tanaman sudah cukup. Bakteri endofit yang diuji sepertinya hanya mampu meningkatkan kadar N pada padi.

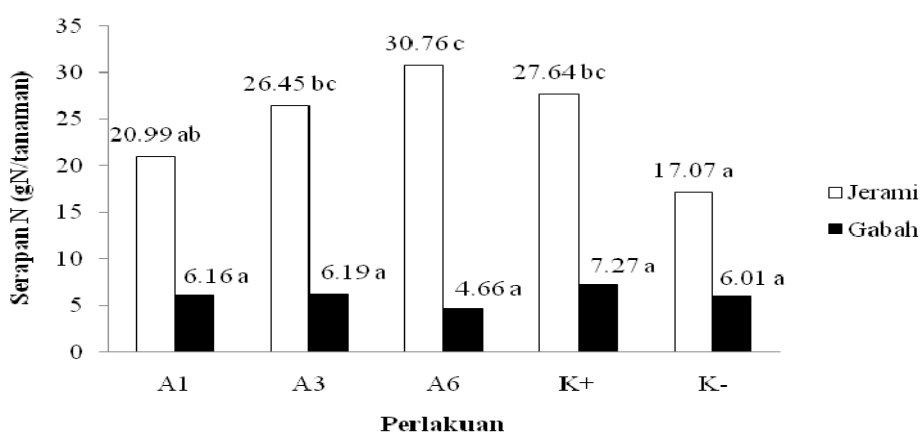
Kemampuan bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi telah banyak dilaporkan termasuk dalam mengurangi dampak salinitas [23]. Mekanisme dalam proses mendukung pertumbuhan tanaman belum sepenuhnya dipahami [24]. Bakteri endofit pada umumnya memiliki kemampuan dalam mengikat N_2 di udara, namun beberapa peneliti melaporkan bahwa peningkatan pertumbuhan tanaman lebih pada kemampuan mikrob dalam menghasilkan zat pengatur tumbuh yang berupa hormon seperti giberelin [25] dan meningkatkan ketebalan tanaman terhadap hama penyakit tanaman [26]. Terlepas dari peranannya sebagai penghasil hormon atau pengikat N_2 , isolat endofit A6 yang digunakan dalam penelitian ini mampu

meningkatkan jumlah malai dan berat kering tanaman sehingga berpotensi digunakan sebagai pupuk hayati.

Pengaruh bakteri endofit terhadap kadar N pada tanaman padi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa serapan nitrogen pada jerami tertinggi terjadi pada perlakuan A6. Hasil serapan pada jerami ini tidak

perlakuan A6 memiliki nilai serapan nitrogen pada biji yang lebih rendah daripada kontrol negatif. Aktivitas penambatan nitrogen oleh endofit sudah dimulai pada saat fase awal pertumbuhan, hal ini sesuai dengan BAL dan CHANWAY [27] yang melaporkan bahwa kemampuan endofit dalam menambat nitrogen sudah dimulai pada saat awal pembibitan. BACHTIAR [28] melaporkan dalam penelitiannya bahwa pupuk hayati campuran dari



Gambar 3. Respon Serapan nitrogen tanaman padi. Huruf abjad yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* ($\alpha=0.05$).

berbeda nyata apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif dan perlakuan A3. Perlakuan A1 memiliki nilai serapan nitrogen terendah dibandingkan dengan perlakuan lain. Nilai serapan jerami pada perlakuan lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol negatif (Gambar 3). Hasil ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian bakteri endofit terhadap serapan nitrogen pada tanaman. Isolat A6 dan A3 mampu meningkatkan rata-rata serapan N tanaman padi masing-masing sebesar 80.19% dan 54.95% dari kontrol. Hasil ini memperkuat dugaan bahwa isolat A3 dan A6 mampu menambat N dari udara, meskipun peran fisiologis tanaman seperti intersepsi akar dan pertumbuhan tanaman karena faktor lingkungan lainnya tidak bisa diabaikan.

Perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif memiliki nilai serapan nitrogen pada gabah yang tidak berbeda nyata. Perbedaan yang tidak nyata diduga karena waktu pemanenan yang belum tepat sehingga N masih menumpuk di batang tanaman padi. ini juga yang menyebabkan

Azotobacter vinelandii (A), *Bacillus cereus* (B), *Bacillus megaterium* (C) berpengaruh secara nyata dalam meningkatkan N total tanaman pada fase awal pertumbuhan tanaman jagung. Sumbangan pupuk hayati pada fase awal pertumbuhan lebih besar daripada sumbangan N yang berasal dari tanah.

Pelabelan isotop nitrogen bertujuan untuk dapat mengetahui kontribusi isolat-isolat dalam menyumbangkan nitrogen dalam jaringan tanaman dan biji. Metode tidak langsung digunakan dalam penelitian ini. sehingga pelabelan dilakukan pada tanah yang dijadikan media tanam, analisis dilakukan dengan mengukur besaran ^{15}N yang terserap pada gabah dan jerami. Nilai serapan ^{15}N pada tanaman kontrol tanpa perlakuan memberikan nilai ^{15}N tertinggi, karena sumber N yang diserap diasumsikan hanya berasal dari ^{15}N . Sebaliknya, ^{15}N yang terdeteksi pada jerami dan gabah pada padi yang diberikan perlakuan nilainya akan lebih kecil dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan (lihat Tabel 2).

Teknik ^{15}N dengan metode tidak langsung menunjukkan pada perlakuan kontrol (tanpa perlakuan) nilai eksese atom ^{15}N yang diserap tanaman lebih tinggi. Tanaman kontrol (tanpa perlakuan) menggunakan sumber nitrogen hanya berasal dari ^{15}N yang diberikan pada tanah dalam pot sehingga ratio $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ lebih besar. Sedangkan pada pot yang diberikan perlakuan nilai eksese atom ^{15}N yang diserap akan lebih kecil, hal ini dikarenakan tanaman menyerap N dari sumber

dibandingkan dengan gabah padi (Tabel 3). Meskipun isolat A1, A3, dan A6 diaplikasikan dalam jumlah yang sama, namun dalam hal kemampuan tumbuh dan menambat N_2 berbeda. Menurut JORGENSEN *et al.* 1999 [29] jumlah nitrogen yang terakumulasi tidak dipengaruhi oleh jumlah sel bakteri endofit, tetapi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sumber nitrogen, ketersediaan energi berupa ATP, dan siklus hidup bakteri.

Tabel 2. Kontribusi A1, A3, A6 terhadap N total pada Jerami Padi

Perlakuan	Rata-rata % N-15 eksese atom pada jerami	% N berasal dari pupuk N-15	% N berasal dari perlakuan
K-	0.88 c	100 c	0 a
A1	0.52 b	59.23 b	40.77 b
A3	0.45 ab	51.53 a	48.46 c
A6	0.47 ab	54.12 ab	45.87 bc
K+	0.41 a	48.50 a	51.49 c

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

Tabel 3. Kontribusi A1, A3, A6 terhadap N total pada Gabah Padi

Perlakuan	Rata-rata %N-15 eksese atom pada Gabah	% N berasal dari pupuk N-15	% N berasal dari perlakuan
K-	0.72 b	100 b	0 a
A1	0.47 a	65.02 a	34.98 b
A3	0.41 a	58.72 a	41.28 b
A6	0.42 a	68.18 a	31.82 b
K+	0.49 a	57.76 a	42.24 b

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%.

lainnya selain dari ^{15}N . Teknik ^{15}N dalam penelitian ini mengasumsikan bahwa sumber N lainnya berasal dari penambatan dari udara oleh isolat endofit.

Kontribusi perlakuan A3 dan A6 yang ditunjukkan pada Tabel 2 menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (pemberian urea rekomendasi). Hasil ini menunjukkan bahwa efektifitas bakteri endofit dalam menyerap dan menyumbangkan N pada jerami padi sama dengan pemberian urea rekomendasi. Ketiga isolat bakteri yang digunakan merupakan hasil isolasi dari batang tanaman padi varietas MIRA 1, sehingga kemungkinan hidup dan aktifitas penambatan nitrogen dapat terjadi di batang tanaman padi. Hal ini dapat terlihat dari nilai kontribusi bakteri endofit terhadap kadar N yang lebih besar di jerami padi (Tabel 2) bila

Hasil pada Tabel 2 dan Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan K+ (pemberian N dalam bentuk urea rekomendasi) memberikan sumbangan tertinggi terhadap kadar N dalam jerami dan gabah padi. Urea merupakan pupuk yang mudah larut dan pergerakannya dalam tanah lebih cepat tersedia sehingga dapat langsung diserap oleh tanaman. Meskipun paling tinggi, namun nilai sumbangan yang diberikan oleh pemupukan urea tidak berbeda nyata dengan perlakuan isolat A1, A3, dan A6. Ini menunjukkan bahwa isolat-isolat yang digunakan dapat memberikan kontribusi terhadap kadar N dalam gabah. Kontribusi isolat-isolat endofit terhadap kadar N dalam gabah ini diperoleh dapat secara langsung melalui fiksasi N dari udara, atau melalui dukungan hormon pertumbuhan yang dihasilkan isolat-isolat tersebut. Untuk

mengkonfirmasi hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai apakah isolat-isolat ini mampu menghasilkan hormon-hormon pertumbuhan. Teknik isotop ^{15}N yang digunakan mampu menunjukkan kontribusi masing-masing bakteri endofit terhadap kadar N dalam jerami dan gabah tanaman padi.

KESIMPULAN

Isolat-isolat A1, A3, dan A6 merupakan bakteri Gram negatif dengan bentuk basil dan memiliki potensi digunakan sebagai pupuk hayati. Hasil analisis dengan teknik ^{15}N menunjukkan bahwa kontribusi perlakuan A3 dan A6 tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (pemberian urea rekomendasi). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri A3 dan A6 memiliki kemampuan dalam menyumbangkan N pada tanaman padi setara dengan pemberian urea. Teknik ^{15}N juga berhasil menggambarkan bahwa penambahan N_2 paling banyak terjadi di jerami padi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Baldani J.I., Caruso L., Baldani V.L.D., Goi S.R., Dobereiner J., Recent advances in BNF with non-legume plants, *Soil Biol. Biochem.* 29, 911–922, 1997.
- [2] Muthukumarasamy R., Cleenwerck, Revathig., Vadivelum., Janssensd., Hosteb., Gumk.U., Parkk.D., Sonc.Y., Sat., Caballero-Melladoj, Natural association of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and diazotrophic *Acetobacter peroxydans* with wetland rice, *Syst. Appl. Microbiol.*, 28, 277–286, 2005.
- [3] Rothballerm., Schmidm., Kleini., Gatteringa., Grundmanns., Hartmanna, *Herbaspirillum hiltneri* sp. nov., isolated from surface-sterilized wheat roots, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56, 1341–1348, 2006.
- [4] Barraquiw. L., Revillal., Ladhaj. K., Isolation of endophytic bacteria from wetland rice, *Plant Soil*, 194, 15–24, 1997.
- [5] Reinhold-Hurek, B. and Hurek, R., *Trends Microbiol.* 6, 139–144, 1998.
- [6] James E.K., P. Gyaneshwara, Barraquiw. L., Mathann., and Ladhaj. K., Endophytic diazotroph associated with rice. In: J.K. Ladha, P.M. Reddy (Eds.). *The quest for nitrogen fixation in rice.* IRRI, 2000.
- [7] James, E. and Olivares, F.L., Infection and colonization of sugarcane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophicus. *Plant Science.* 17, 77–119, 1997.
- [8] Bacon Cw, Hinton Dm., *Bacterial endophytes : the endophytic niche, its occupants, and its utility.* Di dalam : Gnanamanickam SS, editor. *Plant-Associated Bacteria.* Netherland, Springer,, 2006.
- [9] Ladha, J.K, F.J. De Bruijn, and K.A. Malik, Introducing assessing opportunities for nitrogen fixation in rice: a frontier project. *Plant and Soil*, 194, 1-10, 1997.
- [10] Glick, B.R., D.M. Karaturovic And P.C. Newell, A novel procedure for rapid isolation of pap *Pseudomonas*. *Can. J. Microbiol.*, 41, 109-117, 1995.
- [11] Glick., B.R., The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 41, 533-536, 1995.
- [12] Miliūtė I., Buzaitė O., IAA production and other plant growth promoting traits of endophytic bacteria from apple tree. *Biologija*, vol. 57, no. 2, pp. 98–102, 2011.
- [13] Pedraza R.O., Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria, *Int. J. Food Microbiol.* 125, 25–35, 2008.
- [14] Sturz A.V., B.R. Christie, J. Nowak, Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 19, 1–30, 2000.

- [15] Mano, H. and Mirosaki, H., Endophytic Bacteria in the Rice Plant. *Microbes Environ.*, 23, 109-117, 2008.
- [16] Gyaneshwar, P., E.K. James, N. Mathan, P.M. Reddy, B. Reinhold-Hurek, and J. Ladha, Endophytic colonization of rice by a diazotrophic strain of *Serratia marcescens*, *J. Bacteriol.*, 183, 2634-2645, 2001.
- [17] Cao Z.H., Dedattas. K., Filleryi. R.P., Effect of placement methods on floodwater properties and recovery of applied nitrogen (N-15-labeled urea) in wetland rice, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 196-203, 1984.
- [18] Choudhurya, T.M.A., Khanify, M., Evaluation of effects of nitrogen and magnesium fertilization on rice yield and fertilizer nitrogen efficiency using N-15 tracer technique. *J. Plant Nutr.* 24 : 855-871., 2001.
- [19] Coombs, J.T. and Franco, C.M.M., Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. *Applied and Environmental Microbiology.*, 69, (9), 5603-5608, 2003.
- [20] Gagne S., Richardc., Roussean H., and Antoun H., Xylem-residing bacteria in alfalfa roots. *Can. J. Microbiol.*, 33, 996-1000, 1987.
- [21] Hadioetomo R.S., *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Gramedia, Jakarta, 1993.
- [22] International Atomic Energy Agency, *Use Isotope and Radiation Method in Soil and Water Management and Crop Nutrition*. Vienna (AT), International Atomic Energy Agency, 2001.
- [23] Jha Y., Subramanian R. B., Patel S., Combination of endophytic and rhizospheric plant growth promoting rhizobacteria in *Oryza sativa* shows higher accumulation of osmoprotectant against saline stress. *Acta Physiol Plant.*, 33, 797-802, 2011.
- [24] Saito A., Ikeda S., Ezura H., Minamisawa K., Microbial community analysis of the phytosphere using culture-independent methodologies. *Microbes Environ.*, 22, 93-105, 2007.
- [25] Shahzad R., Waqas M., Khan A.L., Asaf S., Khan M.A., Kang S.M., Yun Bw., Lee Ij., Seed-borne endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 produces gibberellins and regulates endogenous phytohormones of *Oryza sativa*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, 236-243, 2016.
- [26] Robert P. Ryan R.P., Germaine K, Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N., Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett*, 278, 1-9, 2008.
- [27] Bal A., and Chanway C.P., Evidence of nitrogen fixation in lodgepole pine inoculated with diazotrophic *Paenibacillus polymyxa*. *Botany*, 90, 891-896, 2012.
- [28] Bachtiar, T., Flatian, A.N., Nurrobifahmi, N., & Waluyo, S.H., Efek Pupuk Hayati Terhadap Serapan N (N-15) pada Fase Awal Pertumbuhan Tanaman Jagung. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, vol. 12, no. 1, pp. 49-56, 2017.
- [29] Jorgensen Nog., Kroer N., Coffin Rb., and Hoch Mp., Relations between Bacterial Nitrogen Metabolism and Growth Efficiency in an Estuarine and an Open-water Ecosystem. *Journal Aquatic Microbial Ecology*, vol. 18, pp. 247-261, 1999.

